

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

27.08.03

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application: 2002年 8月28日

出 願 番 号  
Application Number: 特願2002-248393  
[ST. 10/C]: [JP2002-248393]

出 願 人  
Applicant(s):

藤井 信  
侯 徳興  
ナチュラルウェイ株式会社

REC'D 17 OCT 2003

WIPO PCT

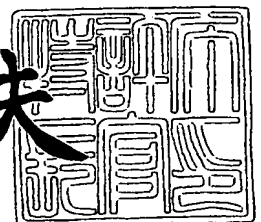
BEST AVAILABLE COPY

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年10月 1日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今 井 康 夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 0208120

【提出日】 平成14年 8月28日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G61N 33/02

【発明者】

    【住所又は居所】 鹿児島市星ヶ峯2丁目9番6号

    【氏名】 藤井 信

【発明者】

    【住所又は居所】 鹿児島県鹿児島市錦江台1丁目51-1-21

    【氏名】 侯 徳興

【特許出願人】

    【住所又は居所】 鹿児島市星ヶ峯2丁目9番6号

    【氏名又は名称】 藤井 信

【特許出願人】

    【識別番号】 502096004

    【氏名又は名称】 侯 徳興

【特許出願人】

    【識別番号】 500314810

    【氏名又は名称】 ナチュラルウェイ株式会社

【代理人】

    【識別番号】 100064414

    【氏名又は名称】 磯野 道造

    【電話番号】 03-5211-2488

【手数料の表示】

    【予納台帳番号】 015392

    【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

    【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0204464

【包括委任状番号】 0204396

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 癌化細胞コロニー検出解析システムおよびコロニー検出解析方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 培地と、軟寒天と、発癌誘導物質および抗癌剤から成る群から選択される少なくとも1種の物質とから構成された所定の寸法を有する底層と、

培地と軟寒天と細胞から構成された所定の寸法を有する上層とから構成された寒天重層培養法に基づく培養系を用いた癌化細胞コロニーの検出解析システムであって、

前記培養系により培養された癌化コロニーを観察するための光学顕微鏡、  
前記光学顕微鏡に映し出されたコロニーを電子データに変換するための電子データ変換手段、

前記電子データ変換手段により変換されたデータを処理するためのコンピュータシステムから構成され、

前記コンピュータシステムは、前記電子データをグレー化し、キャリブレーション、減算及び単一しきい値による2値化を行い、コロニーの有無、コロニーの数、コロニーの寸法分布から成る群から選択された少なくとも1つを解析する画像解析ソフトウェアが格納されていることを特徴とする癌化細胞コロニーの検出解析システム。

【請求項2】 前記コンピュータシステムは、既知の発癌誘導物質から得られた標準データによる解析結果を有しており、前記既知の発癌誘導物質の解析結果と発癌誘導物質および抗癌剤から成る群から選択される少なくとも1種の物質とを比較することを特徴とする請求項1に記載の癌化細胞コロニーの検出解析システム。

【請求項3】 前記既知の発癌誘導物質がTPA、TNF-α、活性酸素から成る群から選択される請求項2に記載の癌化細胞コロニーの検出解析システム。

【請求項4】 前記培養系における細胞がマウス新生児皮膚細胞JB6株であ

ることを特徴とする請求項 1 から請求項 3 のいずれか 1 項に記載の癌化細胞コロニーの検出解析システム。

【請求項 5】 請求項 1 から請求項 4 のいずれか 1 項に記載のシステムを用いて癌化細胞コロニーの検出解析方法であって、

(A) 発癌作用または抗癌作用を有する物質を選択して前記寒天重層培養法に基づく培養系を調製する段階、

(B) 前記培養系において癌化細胞を所定条件で所定時間培養する段階、

(C) 前記培養した癌化細胞を、顕微鏡および電子データ変換手段を介して電子画像データとしてコンピュータシステムに送出する段階、

(D) 前記送出した電子画像データをグレー化し、キャリブレーション、減算及び単一しきい値による 2 値化を行い、コロニーの有無、コロニーの数、コロニーの寸法分布から成る群から選択された少なくとも 1 つを解析する段階を含むことを特徴とする癌化細胞コロニーの検出解析方法。

【請求項 6】 底層の寒天濃度が 0.5～0.6%、上層の寒天濃度が 0.3～0.4% であり、寒天ゲルの厚さが底層 2.4 mm、上層 1.6 mm である培養系を調製することを特徴とする請求項 5 に記載の癌化細胞コロニーの検出解析方法。

【請求項 7】 前記培養系の培養条件が約 37℃、5% 炭酸ガス中で 15～30 日であることを特徴とする請求項 5 に記載の癌化細胞コロニーの検出解析方法。

【請求項 8】 前記発癌作用または抗癌作用を有する物質が食品または食品由来物質であることを特徴とする請求項 5 から請求項 7 のいずれか 1 項に記載の癌化細胞コロニーの検出解析方法。

【請求項 9】 前記解析を画像処理ソフトを用いて行い、寒天ゲルの透明度を均一化し、顕微鏡散乱光を処理し、コロニーの形状、寸法および数の計測、大きさの分布からなる群から選択されたすくなくとも 1 つを解析することを特徴とする請求項 5 から請求項 8 のいずれか 1 項に記載の癌化細胞コロニーの検出解析方法。

【請求項 10】 画像差分処理することにより、ゴミとコロニーの形状を判

別し、長径/半径の比が1.6以下で判別することを特徴とする請求項9に記載の癌化細胞コロニーの検出解析方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、癌化細胞コロニー検出解析システムおよびコロニー検出解析方法に関する。より詳しく述べると軟寒天から構成された軟寒天重層法を用いた細胞培養および培養した細胞を半自動化して癌細胞コロニーを検出解析するシステムおよび方法に関する。

【0002】

癌は医療技術のめざましい進歩にもかかわらず1981年以来脳卒中を抜いて死因のトップを走り続けている。したがって、社会の関心は癌の予防に移りつつある。そこで、まず癌の発生過程を知った上で癌の予防を立てなければならない。

【0003】

一般的に発癌物質が体に取り込まれて大半は生体の防衛能力で代謝し、体外に排泄される。体に留まった一部は三つの段階を経て最終的に癌という病をもたらす。まず、これらの発癌物質が短期間（数日でも可能）に細胞遺伝子に傷害を与え、変異細胞をもたらす。この変異細胞は数年から数十年間の潜伏期を経て前癌状の細胞となる。最後に、前癌状細胞が速いスピード（1年間でも可能）で増殖し、癌になる。このような発癌段階では、前癌状の細胞になるまでは我々自身は何も感じず、現代の医療技術での検出も困難であるので、癌と診断されたら、余命が短いと言われるのがそのわけである。

【0004】

一方、疫学的調査によると、癌の発生の原因の大部分はわたしたちの環境、とくに食生活によるものではないかという見方が注目されてきて、「食と癌予防」は長寿・健康社会に強い関心を寄せられている。

しかし、上に述べたように変異細胞から癌細胞になるのは長い年月がかかるので、癌の予防はこの長い過程を持続的に阻害しなければならない。現時点では、

食による癌の予防の効果検証は難しく、疫学的調査に頼るしかない。したがって、食材による癌予防の有効な検索方法の開発およびその作用機構の究明がこれからますます要求されるだろう。

#### 【0005】

食材による癌予防の有効な検索方法の開発およびその作用機構の究明の一つのアプローチとして、Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America. 98巻、13号、7510～7515頁には、発癌剤による正常細胞の癌化および癌細胞の進行を、寒天培地でコロニーの形成させて、コロニーの数を計測するという記載がある。

#### 【0006】

##### 【発明が解決しようとする課題】

しかし、先行技術には、寒天培地の濃度および厚さに問題点があり、安定な細胞のコロニー数が得られない。また、培養期間は長く、20～30日間かかる。さらに、コロニーの検出は顕微鏡下での肉眼観察で行うので、コロニーの計数ができるが、コロニーの大きさおよび分布の解析ができない。この計数には時間及び体力を著しく要し、また、実験者の個人差が出やすく、精度が問題あり、この検出法のネックとなっている。また、この検出法を用いて検出するには熟練を要する。

#### 【0007】

本発明は、細胞癌化を引き起こす環境中の細胞発癌剤、細胞癌化を抑制する薬品や食品を迅速かつ正確に検出することが可能な癌化細胞コロニーの検出解析システムおよび方法を提供することを課題とする。

#### 【0008】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明者は、上記課題を鑑み鋭意検討した結果、癌化細胞の培養条件を規格化し、前記規格に沿って培養された癌化細胞をデジタルデータとしてコンピュータ等の演算手段に取り込み、取り込んだ画像を特殊処理することによって、上記課題を解決できることを見出して本発明を創作するに至った。

## 【0009】

請求項1に記載の発明によると、培地と、軟寒天と、発癌誘導物質および抗癌剤から成る群から選択される少なくとも1種の物質とから構成された所定の寸法を有する底層と、培地と軟寒天と細胞から構成された所定の寸法を有する上層とから構成された寒天重層培養法に基づく培養系を用いた癌化細胞コロニーの検出解析システムであって、前記培養系により培養された癌化コロニーを観察するための光学顕微鏡、前記光学顕微鏡に映し出されたコロニーを電子データに変換するための電子データ変換手段、前記電子データ変換手段により変換されたデータを処理するためのコンピュータシステムから構成され、前記コンピュータシステムは、前記電子データをグレー化し、キャリブレーション、減算及び単一しきい値による2値化を行い、コロニーの有無、コロニーの数、コロニーの寸法分布から成る群から選択された少なくとも1つを解析する画像解析ソフトウェアが格納されていることを特徴とするものである。

## 【0010】

このように構成することによって、細胞癌化を引き起こす環境中の細胞発癌剤、また、細胞癌化を抑制する薬品や食品を迅速かつ正確に検出することが可能となる。

本発明において、培養系における底層と上層とが各々所定の寸法を有することが重要である。すなわち、培養系を一定条件にすることにより再現性のある検出及び解析結果が得られる。

## 【0011】

請求項2に記載の発明は、コンピュータシステムは、既知の発癌誘導物質から得られた標準データによる解析結果を有しており、前記既知の発癌誘導物質の解析結果と発癌誘導物質および抗癌剤から成る群から選択される少なくとも1種の物質とを比較することを特徴とするものである。

このように既知の成分を標準物質として、未知成分の癌化挙動を調べることが容易となる。なお、本発明において使用される用語「癌化挙動」とは、物質が癌抑制作用または誘導作用のいずれかを有していることを意味するものである。

## 【0012】



請求項 3 に記載の発明は、前記既知の発癌誘導物質が T P A、T N F-α、活性酸素から成る群から選択されることを特徴とするものである。

これらの物質の発癌誘導挙動は、十分に理解されている。従って、標準物質としてこれらの物質と比較することにより、未知の物質の癌誘導または癌抑制挙動が容易に把握することができる。

#### 【0013】

請求項 4 に記載の発明は、前記培養系における細胞がマウス新生児皮膚細胞 J B 6 株であることを特徴とするものである。

J B 6 細胞はマウス新生児皮膚の初代培養細胞から樹立された細胞株である。この細胞は非腫瘍性で、発癌プロモーター (T P A、T N F-α、E G F) のみの処理によって軟寒天コロニー形成能を持っている。また、この細胞は T P A の一段の処理によって、コロニー能を獲得し、イニシエートされて前癌状態にあるので、発癌プロモーションの検出系、またその作用機構の解析系に優れた材料だと考えられている。さらに、本発明の検出系で癌抑制活性を示した多くの化合物は種々の動物実験レベルで、同様な発癌抑制効果が実証されている。したがって、この検出系は発癌プロモーション抑制効果を迅速に検出する手法として現在注目されている系である。

本発明は、このような細胞を使用することが可能である。

#### 【0014】

請求項 5 に記載の発明は、本発明のシステムを用いて癌化細胞コロニーの検出解析方法であって、(A) 発癌作用または抗癌作用を有する物質を選択して前記寒天重層培養法に基づく培養系を調製する段階、(B) 前記培養系において癌化細胞を所定条件で所定時間培養する段階、(C) 前記培養した癌化細胞を、顕微鏡および電子データ変換手段を介して電子画像データとしてコンピュータシステムに送出する段階、(D) 前記送出した電子画像データをグレー化し、キャリブレーション、減算及び単一しきい値による 2 値化を行い、コロニーの有無、コロニーの数、コロニーの寸法分布から成る群から選択された少なくとも 1 つを解析する段階を含むことを特徴とするものである。

#### 【0015】

このように構成することによって、細胞癌化を引き起こす環境中の細胞発癌剤、また、細胞癌化を抑制する薬品や食品を迅速かつ正確に検出することが可能となる。

#### 【0016】

請求項6に記載の発明は、底層の寒天濃度が0.5～0.6%、上層の寒天濃度が0.3～0.4%であり、寒天ゲルの厚さがボトム2.4 mm、トップ1.6 mmである培養系を作成することを特徴し、また請求項7に記載の発明は、前記培養系の培養条件が約37℃、5%炭酸ガス中で15～30日であることを特徴とする。

このように培養条件を標準化することによって、同一条件で精度よくかつ制限性よく検定が可能である。

#### 【0017】

請求項8に記載の発明は、前記発癌作用または抗癌作用を有する物質が食品または食品由来物質であることを特徴とする。

食品の抗癌作用および発癌性は、現在最も注目されるものである。本発明は、このような食品や食品由来物質についての癌化挙動を検定することが可能である。

#### 【0018】

請求項9に記載の発明は、前記解析を画像処理ソフトを用いて行い、寒天ゲルの透明度を均一化し、顕微鏡散乱光を処理し、コロニーの形状、寸法および数の計測、大きさの分布からなる群から選択されたすくなくとも1つを解析することの特徴とするものであり、そして請求項10に記載の発明は、請求項9に記載の発明において画像差分処理することにより、ゴミとコロニーの形状を判別し、長径/半径の比が1.6以下で判別することの特徴とするものである。

このように、画像処理ソフトを用いることにより精度よくかつ再現性よく検定を行うことができる。また、画像処理ソフトを用いることで、熟練したスキルを要することなく検定を行うことが可能となる。

#### 【0019】

#### 【発明の実施の形態】

以下、本発明の実施の形態を説明する。

まず、本発明の癌化細胞コロニー検出解析システムを図1に基づいて説明する。図1は、本発明の癌化細胞コロニー検出解析システムの概略を示す模式図である。

#### 【0020】

本発明の癌化細胞コロニー検出解析システムは、所定の寒天重層培養法に基づく培養系1と前記培養系により培養した癌化細胞を検出解析するための検出系2とから主として構成される。

#### 【0021】

(培養系)

本発明において使用される培養系は、培地と、軟寒天と、発癌誘導物質および抗癌剤から成る群から選択される少なくとも1種の物質とから構成された所定の寸法を有する底層11と、培地と軟寒天と細胞から構成された所定の寸法を有する上層12とから構成された寒天重層培養法に基づく培養系である。

#### 【0022】

底層に使用される培地は、従来公知のものから適宜選択されて使用することができ、例えばEMEM (Eagle's minimum essential medium) プラス5%の牛胎児血清を用いることができる。また、底層における軟寒天培地についても、従来公知のものを使用することができるが、再現性の観点から同一メーカーのものを使用することが特に好ましい。本発明において底層を形成する軟寒天は、例えば濃度0.5~0.6%、好ましくは0.5%の一定量に規定する。また、厚みについても一定の厚み例えば2.4mmに規定する。このように、して構成された底層に、所定量の発癌誘導剤または抗癌剤を添加して本発明の培養系における底層を調製する。

なお上層および底層の寒天ゲルの濃度と厚みは、顕微鏡撮影のためある程度の透明度の寒天ゲルが必要であり、そのために寒天ゲルの濃度と厚みを検討し、細胞培養に影響がなく、さらに顕微鏡撮影も出来る寒天ゲルの濃度と厚みを選択するものである。

#### 【0023】

この際に使用される発癌誘導剤として、発癌性が充分確立されている既知の発癌誘導剤、例えばTPA、TNF- $\alpha$ 、活性剤、発癌性が未知の発癌性物質を添加する。後述する通り。基地の発癌誘導剤を添加して所定条件で調製した本発明の培養系を用いて培養を行ったデータを標準データとして用いて、この標準データと検出解析すべき未知成分を同量添加して比較することにより未知成分の発癌性を解析することが可能である。

また、同様にして、抗癌剤、例えば種々の医薬用抗癌剤や食品等を添加することも可能である。さらに、例えば発癌誘導剤と抗癌剤の両方を添加してその抗癌剤の抗癌作用を解析することも可能である。

#### 【0024】

本発明の培養系における上層は、所定の寸法および所定濃度の軟寒天および癌細胞を成長させるための細胞から構成される。

上層に使用される軟寒天は、例えば濃度0.3～0.4%および厚み1.6mm等の所定条件に設定することが必要である。

#### 【0025】

本発明に使用する細胞は、特に制限されるものではないが、JB6細胞が好ましい。

JB6細胞はマウス新生児皮膚の初代培養細胞から樹立された公知の細胞株である(N. H. Colburn et al., Nature, 281, 589 (1979))。この細胞は非腫瘍性で、発癌プロモーター(TPA, TNF- $\alpha$ , EGF)のみの処理によって軟寒天コロニー形成能を持っている。また、この細胞はTPAの一段の処理によって、コロニー能を獲得し、イニシエートされて前癌状態にあるので、発癌プロモーションの検出系、またその作用機構の解析系に優れた材料だと考えられている(Z. Dong et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, 609 (1994); Z. Dong et al., Mol. Carcinog., 19, 204 (1997); J. J. Li et al., Cancer Res., 57, 3569 (1997); C. Huang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 156 (1998); および J. Y. Chung et

al., Cancer Res., 59, 4610 (1999)を参照のこと)。また、後述する本発明と同様の検出系で癌抑制活性を示した多くの化合物は種々の動物実験レベルで、同様な発癌抑制効果が実証されている (M. R. Young et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96, 9827 (1999); および Y. Zhao et al., Cancer Res., 61, 6082 (2001)を参照のこと)。したがって、この検出系は発癌プロモーション抑制効果を迅速に検出する手法として現在注目されている系である。本発明ではこのような細胞を用いて多大な時間及び労力を要することなしに、実験者による測定誤差を最小化して使用することが可能である。

#### 【0026】

本発明において、このようにして構成された軟寒天をシャーレ上で所定温度、例えば 42℃で溶解して重層を形成する。

#### 【0027】

このようにして調製された培養系 1 は、所定条件で培養される。これらの培養系 1 の培養条件を、規定することにより再現性のある検出解析結果が得られる。

例えば、約 37℃の温度にて 5%炭酸ガス中 15～30日、好ましくは 15日間インキュベータ中で培養する。

#### 【0028】

(検出系)

本発明の癌化細胞コロニー検出解析システムにおける検出系 2 は、顕微鏡 21、前記顕微鏡に接続された電子データ変換手段であるデジタルカメラ 22 およびコンピュータシステム 23 から主として構成される。

本発明において使用される顕微鏡 21 は、従来公知の倍率を有する光学顕微鏡であってデジタルカメラ等の電子データ変換手段と接続可能なものであれば特に制限されるものではない。

#### 【0029】

デジタルカメラ 22 は、顕微鏡 21 で拡大したアナログ画像をデジタル画像データ、例えば JPEG、TIFF、PCX、GIF 等に変換する電子データ変換手段である。デジタルカメラ 22 でデジタル画像データは、デジタルカメラ 22

に内蔵された記憶媒体に保存し、記録媒体を介してコンピュータシステム 23 に取り込むことも可能であるが、例えば USB 等のインターフェースを介して直接コンピュータシステム 23 に送出することが好ましい。

#### 【0030】

本発明の検出系 2 に使用されるコンピュータシステム 23 は、プログラムを実行するための演算子 (CPU)、メモリ、オペレーティングシステム、画像解析プログラム、デジタル画像データ等を保存するためのハードディスク等のデータ保存手段、デジタルカメラ 22 で撮像されたデジタル画像データを取込むためのインターフェース、例えば USB、CF リード等のデジタルカメラ 22 に内蔵された記録媒体の取り込み手段等から主として構成されている。

#### 【0031】

本発明において、デジタルカメラからの培養結果であるデジタル画像データは、画像解析ソフトウェアにより解析される。例えば、デジタル画像データをグレースケール化し、キャリブレーション、減算及び単一しきい値による 2 値化を行い、コロニーの有無、コロニーの数および／またはコロニーの寸法分布を解析することが可能である。この際に、顕微鏡撮影の目的で寒天ゲルの透明度を均一化し、顕微鏡散乱光を処理するのが好ましく、より好ましくは当該技術分野に公知の方法による画像差分処理すると、ゴミとコロニーの形状を判別し、長径/半径の比が 1.6 以下で判別する。

#### 【0032】

なお、顕微鏡撮影は、どうしても、中心部には光が強く、その周りには暗い視野になってしまう。そのため光のバックの影響を消去するため画像差分処理を行う。その方法としては、細胞を入れていない寒天ゲルのシャーレを撮影し、それをコントロール画像とする。サンプルの画像からこのコントロール画像を除くと明るさの均一の画像が得られる。

また、細胞癌化コロニーは一般的に円状であるので、長径/半径の比が 1.6 以下とすると、長細のゴミ等を除去することが出来る。

#### 【0033】

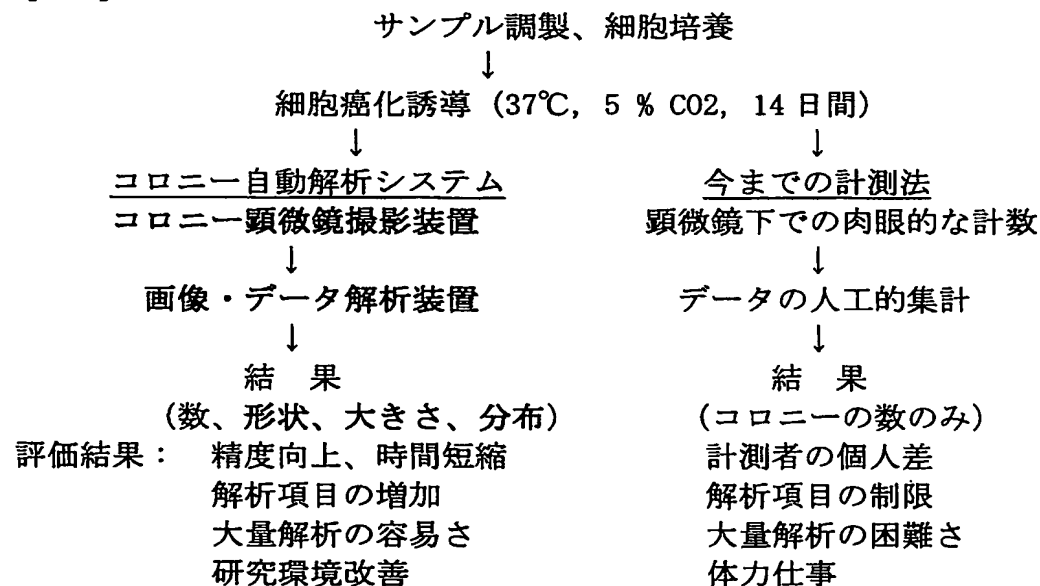
このように構成することによって、培養系で所定条件により培養された細胞の

検出および解析を効率よくかつ再現よく行うことができる。

以下に、本発明のシステムを用いた場合と従来のシステムを用いた場合の検出解析の相違を表1に列挙する。

### 【0034】

【表1】



### 【0035】

#### 【実施例】

#### 〔実施例1〕

ボトム寒天にイモジューズ濃縮汁液とTPAとを添加して、上層に正常細胞を培養した結果を図2に示す。濃度の増加とともに癌化抑制率が向上することがわかる。

### 【0036】

#### 〔実施例2〕

底層寒天にブルーベリーアントシアニンを添加して培養した結果を図3に示す。濃度の増加とともに癌化抑制率が向上することがわかる。

### 【0037】

#### 【発明の効果】

請求項 1 に記載の発明によると細胞癌化を引き起こす環境中の細胞発癌剤、また、細胞癌化を抑制する薬品や食品を迅速かつ正確に検出することが可能となる。

請求項 2 および請求項 3 に記載の発明によると既知の成分を標準物質として、未知成分の癌化挙動を調べることが容易となる。

請求項 4 に記載の発明によると、J B 6 細胞はマウス新生児皮膚の初代培養細胞から樹立された細胞株である。

請求項 5 に記載の発明によると、細胞癌化を引き起こす環境中の細胞発癌剤、また、細胞癌化を抑制する薬品や食品を迅速かつ正確に検出することが可能となる。

請求項 6 および請求項 7 に記載の発明によると、同一条件で精度よくかつ制限性よく検定が可能である。

請求項 8 に記載の発明によると、食品の抗癌作用および発癌性は、現在最も注目されるものである。本発明は、このような食品や食品由来物質についての癌化挙動を検定することが可能である。

請求項 9 および請求項 10 に記載の発明によると画像処理ソフトを用いることにより精度よくかつ再現性よく検定を行うことができる。また、画像処理ソフトを用いることで、熟練したスキルを要することなく検定を行うことが可能となる。

#### 【図面の簡単な説明】

##### 【図 1】

本発明の癌化細胞コロニー検出解析システムの概略を示す模式図である。

##### 【図 2】

本発明のシステムを用いて測定した結果を示すグラフである。

##### 【図 3】

本発明のシステムを用いて測定した結果を示すグラフである。

#### 【符号の説明】

1 培養系

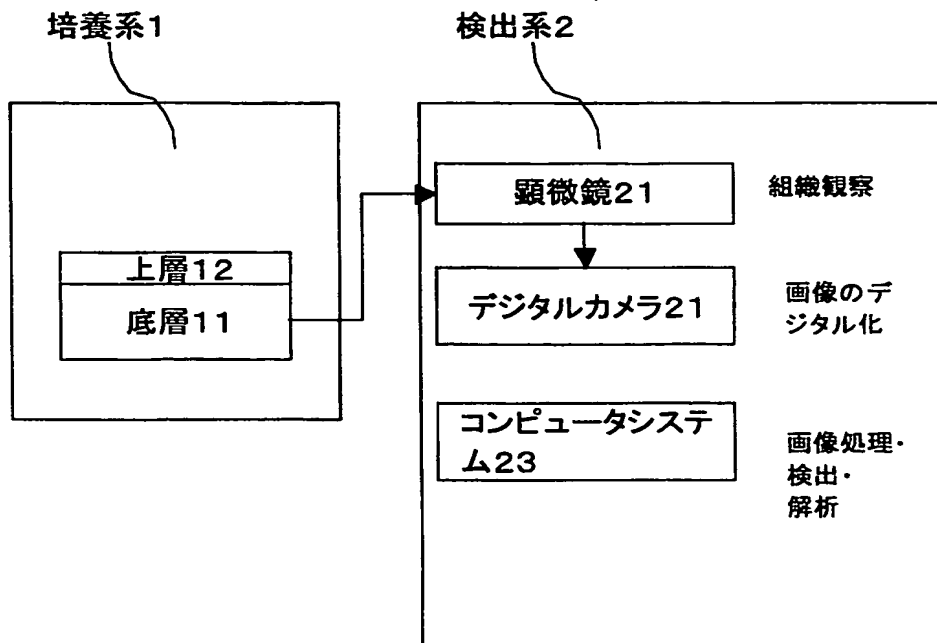
11 底層



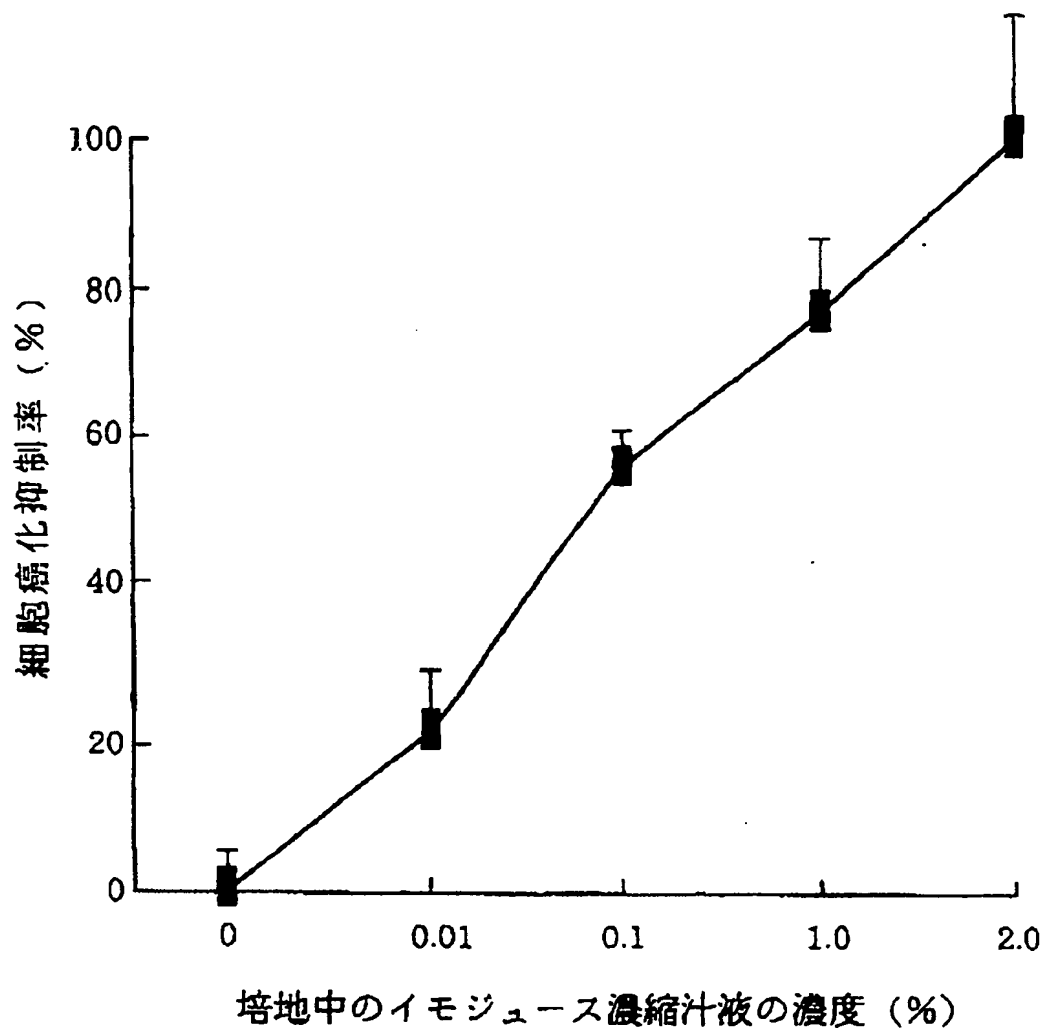
- 1 2 上層
- 2 検出系
  - 2 1 顕微鏡
  - 2 2 デジタルカメラ
  - 2 3 コンピュータシステム

【書類名】 図面

【図 1】

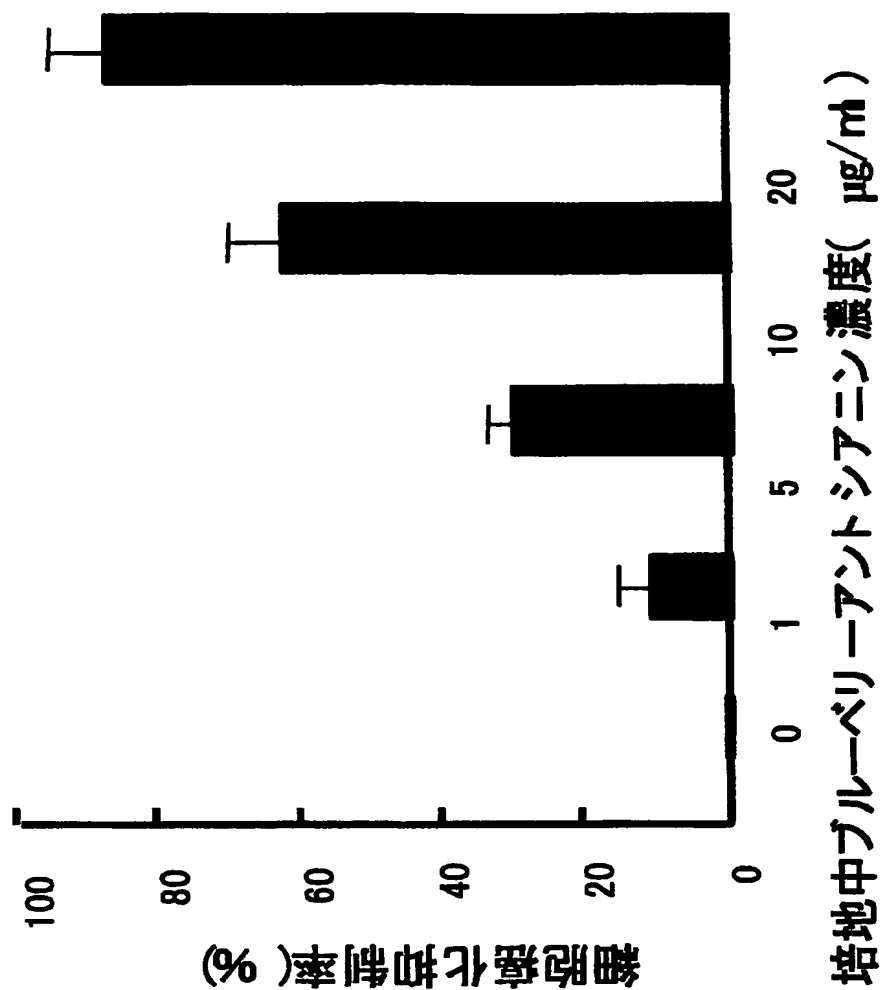


【図 2】



【図 3】

ブルーベリーのマウス皮膚細胞癌化の抑制効果



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 細胞癌化を引き起こす環境中の細胞発癌剤、細胞癌化を抑制する薬品や食品を迅速かつ正確に検出することが可能な癌化細胞コロニーの検出解析システムおよび方法を提供する

【解決手段】 培地と、軟寒天と、発癌誘導物質および／または抗癌剤とからされた所定の寸法を有する底層 11 と、培地と軟寒天と細胞から構成された所定の寸法を有する上層 12 とから構成された寒天重層培養法に基づく培養系 1 を用いた癌化細胞コロニーの検出解析システムであって、光学顕微鏡 21、デジタルカメラ等の電子データ変換手段 22、前記電子データ変換手段により変換されたデータを処理するためのコンピュータシステム 23 から構成され、コンピュータシステムは、電子データをグレー化し、キャリブレーション、減算及び単一しきい値による2値化を行い、コロニーの有無、コロニーの数、コロニーの寸法分布等を解析する画像解析ソフトウェアが格納されている。

【選択図】 図 1

## 認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2002-248393
受付番号	50201277232
書類名	特許願
担当官	山内 孝夫 7676
作成日	平成14年 8月30日

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

## 【特許出願人】

【識別番号】	500527487
【住所又は居所】	鹿児島県鹿児島市星ヶ峯二丁目9-6
【氏名又は名称】	藤井 信

## 【特許出願人】

【識別番号】	502096004
【住所又は居所】	鹿児島県鹿児島市星ヶ峯2丁目41番1号
【氏名又は名称】	侯 徳興

## 【特許出願人】

【識別番号】	500314810
【住所又は居所】	東京都渋谷区恵比寿南2-21-2-302
【氏名又は名称】	ナチュラルウェイ株式会社

## 【代理人】

申請人	
【識別番号】	100064414
【住所又は居所】	東京都千代田区平河町2丁目7番4号 砂防会館 別館内 磯野国際特許商標事務所
【氏名又は名称】	磯野 道造

次頁無

特願 2002-248393

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[502096004]

1. 変更年月日

2002年 3月18日

[変更理由]

新規登録

住 所

鹿児島県鹿児島市錦江台1丁目51番121号

氏 名

侯 徳興

2. 変更年月日

2002年 7月 1日

[変更理由]

住所変更

住 所

鹿児島県鹿児島市星ヶ峯2丁目41番1号

氏 名

侯 徳興

特願 2 0 0 2 - 2 4 8 3 9 3

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 5 0 0 3 1 4 8 1 0 ]

1. 変更年月日

2 0 0 0 年 7 月 4 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都渋谷区恵比寿南 2 - 2 1 - 2 - 3 0 2

氏 名

ナチュラルウェイ株式会社



特願 2002-248393

出願人履歴情報

識別番号

[500527487]

1. 変更年月日  
[変更理由]

2000年11月15日

新規登録

住 所  
氏 名

鹿児島県鹿児島市星ヶ峯二丁目9-6  
藤井 信

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images  
problems checked, please do not report the  
problems to the IFW Image Problem Mailbox**